不同生长年限华重楼根际土壤微生物多样性研究

冼康华[1]，苏江[1]，付传明[1]，何文[1]，刘宝骏[1]，谢东斌[2]，黄宁珍[1]，何金祥[1*]
（1. 广西喀斯特植物保育与恢复生态学重点实验室，广西壮族自治区中国科学院广西植物研究所，广西 桂林 541006；2. 百色学院 农业与食品工程学院，广西 百色 533000）

摘 要：为探究华重楼生长发育与土壤微生物群落结构变化的关系，该研究利用 Illumina 高通量测序技术对 3 年生、5 年生、7 年生、9 年生等四个不同生长年限的华重楼根际土壤细菌 16S rRNA 和真菌 18S 序列进行测序分析。结果表明：（1）不同生长年限根际土壤中主要优势细菌均为变形菌门、酸杆菌门、放线菌门和绿弯菌门；优势真菌为子囊菌门、担子菌门与毛霉门。（2）不同生长年限华重楼根际土壤中细菌物种较真菌更丰富，多样化程度更高。细菌多样性随着华重楼生长年限的增加呈降低、升高、再降低的“И”字型规律，最低点在第 5 年、最高点在第 7 年；真菌多样性则随着生长年限的增加呈先升高后下降的“Λ”字型规律，最高点在第 7 年。细菌群落丰富度随着生长年限的增加呈先升高后下降的“Λ”字型规律，第 7 年时丰富度最高；而真菌丰富度随着生长年限增长变化不大。（3）UPGMA 聚类分析显示，随着生长年限的推进根际土壤微生物群落结构演变明显，细菌群落演变比较剧烈的时期是在定植后第 7 年、而真菌群落则在定植后第 5 年。（4）Spearman 相关性分析发现速效钾和全氮是影响华重楼根际土壤细菌组成的主要因子，全钾是影响真菌组成的主要因子。综上结果说明不同生长发育时期的华重楼根际土壤微生物群落组成和结构不同，第 5~7 年是根际土壤微生物群落多样性产生重大变化的关键时期。

关键词：华重楼，根际土壤，微生物群落，多样性

中图分类号：Q948　　　**文献标识码：A**　　　**文章编号：**

Microbial diversity in rhizosphere soil of *Paris polyphylla* var. *chinensis* in different growth years

XIAN Kanghua[1], SU Jiang[1], FU Chuanming[1], HE Wen[1], LIU Baojun[1], XIE Dongbin[2], HUANG Ningzhen[1], HE Jinxiang[1*]
（1. *Guangxi Key Laboratory of Plant Conservation and Restoration Ecology in Karst Terrain, Guangxi Institute of Botany, Guangxi Zhuang Autonomous Region and Chinese Academy of Sciences,* Guilin 541006, Guangxi, China; 2. *College of Agriculture and food Engineering, Baise University*, Baise 533000, Guangxi, China）

基金项目：广西自然科学基金青年基金项目(2020GXNSFBA297007)；桂林市科学研究与技术开发计划项目(20170227；20190215-2)；广西喀斯特植物保育与恢复生态学重点实验室项目(19-050-6；17-259-23) [Supported by Guangxi Natural Science Youth Found Program(2020GXNSFBA297007); Program of Scientific Research and Technology Development Plan of Guilin(20170227; 20190215-2); Guangxi Key Laboratory of Plant Conservation and Restoration Ecology in Karst Terrain(19-050-6; 17-259-23)]。

作者简介：冼康华(1988-)，硕士，助理研究员，主要从事植物生物技术和珍稀濒危植物保育研究，(E-mail)294258305@qq.com。
***通信作者：**何金祥，研究员，主要从事植物保护及生物防治技术研究，(E-mail)45257545@qq.com。

Abstract: In order to explore the relationship between the growth of *Paris polyphylla* var. *chinensis* and the microbial community structure changes of the rhizosphere soil, the Illumina high-throughput sequencing technique was used to sequence the 16S rRNA gene of bacteria and 18S sequences of fungal at four different growth years, including 3 years, 5 years, 7 years and 9 years. The results were as follows: (1) Proteobacteria, Acidobacteria, Actinobacteria and Chloroflexi were dominant bacteria in the rhizosphere soil of *P. polyphylla* in different growth years. The dominant fungi phylas were Ascomycota, Basidiomycota and Mucoromycota. (2) The bacterial species in the rhizosphere of *Paris polyphylla* in different growth years were more abundant than fungi, and the degree of diversification was higher. The lowest point of bacterial diversity, which decreased, increased, and then decreased again with the increase of growth years showed a pattern of "И", was at the 5th year and the highest point was at the 7th year. The fungal diversity showed a pattern of " Λ " that first increased and then decreased with the increase of growth years, and the highest point was at the 7th year. The abundance of bacterial communities also showed a pattern of " Λ " that first increased and then decreased with the increase of growth years, and the highest point was also at the 7th year. The abundance of fungi did not change much as the year growing. (3) The UPGMA cluster analysis showed that the microbial community structure of the rhizosphere soil had evolved significantly. The period when the bacterial community evolved more drastically was in the 7th year after planting, and the fungal community was in the 5th. (4) Spearman correlation analysis found that total nitrogen and available potassium were the main factors affecting the composition of rhizosphere soil bacteria, and Total potassium was the main factor affecting the composition of fungi. All the above results indicate that the composition and structure of the soil microbial community in the rhizosphere of wild *P. polyphylla* at different growth and development stages are different, and the 5-7th year is a critical period for significant changes in the diverdity of the soil microbial community.
Keywords: *Paris polyphylla* var. *Chinensis*, rhizosphere soil, microbial community, diversity

华重楼(*Paris polyphylla* var. *chinensis*)为百合科重楼属多年生草本植物，是我国传统名贵中药，具有清热解毒、消肿止痛、凉肝定惊等功效，是我国云南白药、宫血宁、百宝丹、热毒清、季德盛蛇药、抗病毒颗粒、总皂苷片等许多著名中成药的主要原料(袁理春等，2004；汤海峰等，1998)，具有重要的开发应用价值。根际是土壤-根系-微生物三者紧密结合、相互影响的场所（Butler et al.，2003）。根际微生物的适当生长可以刺激植物根系的生长，增加根系的吸收面积，促进植物对各种元素的吸收，同时根际土壤微生物也是衡量土壤肥力和养分的重要指标（王静等，2015；李航等，2016；仝鑫等，2016）。药用植物产生的黄酮、生物碱、萜类等次级代谢产物丰富，在生长过程中很容易释放到土壤中，从而引起植物根际土壤理化性质的改变，导致根际微生物的变化（Nihorimbere et al.，2011）。研究表明，不同植物以及同一植物不同的生长发育时期，或者同一植物的不同基因型之间，对营养元素的偏好和吸收程度不同，其根系分泌物组成、分泌量和累积程度也存在着较大的差异，从而使得根际土壤微生物结构发生改变（Garbeva et al.，2008；韩玉竹等，2010）。魏志华等（魏志华等，2010）对 2 年和 10 年生连翘根际微生物和土壤酶活性进行研究，结果表明随着连翘生长年限的延长，根际微生物总量呈上升趋势，其中细菌和真菌数量增加，放线菌数量减少。大多数药用植物连作障碍研究均表明：连作会使药用植物根际微生物从高肥力的“细菌型土壤”向低肥力的“真菌型土壤”转变或破坏了根际微生物种群的平衡（李琼芳，2006；乔卿梅等，2009；何江华等，2008）。根际微

生物群落结构失调及病原菌数量增加是造成药用植物连作障碍的主要原因（李勇等，2010）。因此，研究不同生长年限药用植物生长对根际土壤微生物群落多样性的影响，对了解药用植物根际土壤状态、促进植株生长、防治地下病虫害及提高药材品质等有十分重要的意义。

华重楼生长周期长，通常从种子到药材需要 8-10 年时间，长时间的单一化种植极易引发连作障碍，从而导致华重楼的品质和产量难以得到保障。近年来华重楼根际微生物的研究主要从不同栽培环境、不同品种等方面进行探讨（周浓等，2015；张静等，2016；郑梅霞等，2020），而对不同生长发育期华重楼与根际微生物多样性变化的研究较少，土壤微生物群落组成结构变化与华重楼生长年限的关系仍不清楚。鉴于此，本研究采集不同生长年限野生华重楼的根际土壤，利用 Illumina 高通量测序技术对土壤细菌 16S rRNA 和真菌 18S 序列进行测序，对不同生长年限野生华重楼根际微生物群落组成结构及多样性进行研究，探讨华重楼生长发育对其定植地微生物群落组成和多样性的影响规律，为人工栽培华重楼及探寻其根茎病害发生的生理生态机制及相应的生物防治方法提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 土壤样品采集与处理

华重楼每年冬季地上部茎秆倒伏，根茎上会留下刻痕，常规可以按根茎上刻痕的数量来判断不同生长年限（苏海兰等，2020）。土样采集按照鲍士旦的方法（鲍士旦，2000），2018 年 9 月在广西金秀县华重楼野外自然分布区采用随机多点混合的原则，每个采样点选取生长健康、长势一致、刻痕数相同（1 个刻痕代表生长 1 年）的华重楼 10 株，收集根系及附着其上 0~0.5 cm 的土壤作为根际土，将混匀的根际土壤放入无菌塑料袋中，用标签记录采样的信息，放入户外保鲜箱后立即带回实验室，每个采样点 3 次重复。每个土壤样品采集后分成两份，一份置于-80 ℃下保存，用于土壤 DNA 提取及后续的细菌 16S rRNA 和真菌 18S rRNA 测序；一份室内自然风干，研磨，过 2 mm 筛，用于土壤理化性质测定。由于野生华重楼生长年份的不可控性，根据本次采样的实际情况结合重楼主要药用成份重楼皂苷的积累规律（张烨等，2011；王琳娜等，2018），选择 3 年生、5 年生、7 年生和 9 年生四个不同生长年限华重楼的根际土样开展土壤微生物多样性研究，土壤信息如表 1 所示。

表 1 不同生长年限华重楼根际土壤信息

Table 1 Sources of rhizosphere soils of *P. polyphylla* var. *chinensis* in different growth years

样品编号 Sample code	生长年份 Years of growth	采集地点 Collection location	经纬度 Latitude and longitude	海拔 Altitude (m)
JY1	3 years	金秀香草岭 Vanilla ridge in Jinxiu County	110°12′23″ E 24°8′54″ N	1 300

JY2	5 years	金秀香草岭 Vanilla ridge in Jinxiu County	110°12′10″ E 24°8′55″ N	1 250
JY3	7 years	金秀香草岭 Vanilla ridge in Jinxiu County	110°12′10″ E 24°8′57″ N	1 200
JY4	9 years	金秀香草岭 Vanilla ridge in Jinxiu County	110°12′12″ E 23°54′60″ N	1 210

1.2 华重楼根际土壤微生物群落组成及多样性分析

1.2.1 土壤微生物 DNA 的提取、PCR 扩增和测序

土壤微生物总 DNA 使用上海生工生物工程股份有限公司的土壤基因组 DNA 快速抽提试剂盒提取；提取后 DNA 样品用干冰寄送到上海美吉生物医药科技有限公司进行测序。整个上机流程包括 PCR 的扩增，PCR 产物的混样、纯化，文库的构建。对细菌 V3-V4 区进行扩增的引物采用 338F(5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3') 和 806R(5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3')。扩增程序为：95 ℃预变性 3 min；95 ℃变性 30 s；53 ℃退火 30 s；72 ℃延伸 45 s；持续 28 个循环周期；最后 72 ℃延伸 10 min。对真菌 V5-V7 区进行扩增的引物采用 SSU0817F(5'-TTAGCATGGAATAATRRAATAGGA-3') 和 1196R(5'-TCTGGACCTGGTGAGTTTCC-3')。扩增程序为：95 ℃预变性 3 min；95 ℃变性 30 s；53 ℃退火 30 s；72 ℃延伸 45 s；持续 37 个循环周期；最后 72 ℃延伸 10 min。扩增产物利用美吉生物 Illumina 平台进行测序。

1.2.2 微生物组测序数据质控与分析

对测序得到的原始数据进行拼接质控，得到有效数据。采用 Uparse 软件平台进行 OTU（operational taxonomic units）聚类和物种信息分析。OTU 聚类步骤如下：1）对优化序列提取非重复序列，便于降低分析中间过程冗余计算量；2）去除没有重复的单序列；3）按照 97%相似性对非重复序列（不含单序列）进行 OTU 聚类，在聚类过程中去除嵌合体，得到 OTU 的代表序列；4）将所有优化序列 map 至 OTU 代表序列，选出与代表序列相似性在 97%以上的序列，生成 OTU 表格。采用 RDP classifier 贝叶斯算法对 97%相似水平的 OTU 代表序列进行分类学分析。

1.2.3 华重楼根际土壤微生物组成分析

基于测序的数据，利用 mothur 软件分析不同随机抽样下的 Alpha 多样性反映微生物群落的丰富度和多样性，包括 Ace、Chao、Simpson 和 Shannon 等指数。其中，Ace 和 Chao 指数反映样本中群落的丰富度，Simpson 和 Shannon 指数反映群落的多样性，Ace、Chao 和 Shannon 指数越大，Simpson 指数越小，说明样品的物种多样性越高；利用 R 语言工具生成土壤微生物群落柱形图（Bar 图）；Venn 图可用于统计多组或多个样本中所共有和独有的 OTU 数目，采用 R 语言工具和作图生成。

1.2.4 华重楼根际土壤微生物群落结构差异性分析

通过对不同样品微生物群落间进行 Beta 多样性分析，探索不同样品间群落组成的相似性或差异性；用 Qiime 数据分析流程计算 Beta 多样性距离矩阵，然后用 R 语言进行 UPGMA 聚类分析并作树状图。

1.3 华重楼根际土壤理化性质测定

土壤理化性质测定参照《土壤农化分析》（鲍士旦，2000）。测定项目和方法如下：全氮（凯氏定氮法）、全磷（钼锑显色法）、全钾（火焰光度法）、土壤有机碳（重铬酸钾水合加热法）、铵态氮和硝态氮（定氮仪法）、速效磷（盐酸-氟化铵法)）、速效钾（浸提+原子吸收法）和 pH 值。

1.4 不同微生物物种与土壤理化因子相关性分析

基于土壤 DNA 测序及土壤理化分析的数据，利用 R 语言工具计算所选微生物物种与环境因子之间的相关性系数（Spearman 等级相关系数、Pearson 相关系数等），将获得的数值矩阵通过 Heatmap 图直观展示。通过颜色变化反映二维矩阵或表格中的数据信息，颜色深浅表示数值的大小。

2 结果与分析

2.1 不同生长年限华重楼土壤微生物群落的多样性分析

2.1.1 细菌群落的多样性分析

供试土壤样品的细菌和真菌群落丰度指数（Ace, Chao）和多样性指数（Shannon，Simpson）如表显示（表 2）。其中细菌 Ace 和 Chao 指数均随着生长年限的增加呈先升高后下降的趋势，且各年份间差异显著，峰值均出现在第 7 年，表明华重楼根际土壤中细菌丰富度随着株龄的增加呈先升高后下降的趋势，在第 7 年时华重楼根际土壤中细菌丰富度最高，第 3 年时细菌丰富度最低。

而 Shannon 和 Simpson 指数各年份间差异显著，随着生长年限发生明显的起伏波动。在华重楼生长至第 5 年时，Shannon 指数降至最低、而 Simpson 指数升至最高，说明此时的土壤环境利于某些特定种类（或类群）细菌的生长和繁殖，因此细菌丰富度并未出现较大改变，但由于竞争关系致使土壤中其余细菌种类（或类群）的生长和繁殖受到抑制，故细菌多样性出现一个异常大的下降幅度。到第 7 年时，Shannon 指数升至最高、而 Simpson 指数降至最低，表明此年份的华重楼根际土壤中细菌多样性最高。综合上述结果表明，华重楼的生长对根际土壤中细菌数量和种类的影响均达到显著水平。

2.1.2 真菌群落的多样性分析

由表 2 可知，所有年份土壤样品中真菌 Ace 和 Chao 指数差异不显著，表明所选年份的华重楼对根际土壤真菌丰富度的影响不大。而真菌 shannon 和 Simpson 指数分析显示，华重楼根际土壤真菌 Shannon 指数随着生长年限的增加先升后降，Simpson 指数则先降后升，峰值和最低值均在第 7 年出现，结合显著性分析发现华重楼的生长对根际土壤中真菌多样性的影响显著，真菌种类随着生长年限的增加呈先增加后下降的趋势，在华重楼生长至第 7 年时根际土壤中真菌类群数量最多，物种丰富。

表 2 土壤微生物群落的丰富度和多样性指数

Table 2 Abundance and diversity index of soil microbial community

生长年份 Years of growth	细菌 Bacterial				真菌 Fungi			
	Ace index	Chao index	Shannon index	Simpson index	Ace index	Chao index	Shannon index	Simpson index
3 years	（1 062.69	（1 088.86	（5.73±	（0.006 1±	（160.62±	（159.10±	（1.89±	（0.427 1±

	±32.53）d	±37.67）d	0.10）c	0.000 1）b	11.55）a	8.43）a	0.06）d	0.005 9）a
5 years	（1 303.77 ±45.62）c	（1 353.53 ±43.22）c	（5.34± 0.13）d	（0.024 2± 0.000 3）a	（169.01± 11.21）a	（166.58± 6.37）a	（2.51± 0.03）b	（0.310 2± 0.000 9）c
7 years	（1 853.30 ±50.38）a	（1 915.16 ±48.25）a	（6.49± 0.12）a	（0.003 0± 0.000 2）c	（156.85± 12.15）a	（155.35± 8.27）a	（3.28± 0.06）a	（0.071 1± 0.001 6）d
9 years	（1 603.52 ±29.66）b	（1 607.08 ±33.56）b	（5.93± 0.09）bc	（0.006 4± 0.000 1）b	（155.40± 7.30）a	（154.75± 4.70）a	（2.12± 0.10）c	（0.396 3± 0.002 1）b

注: 同列中数值后面的不同小写字母表示差异显著(P<0.05)。下同。

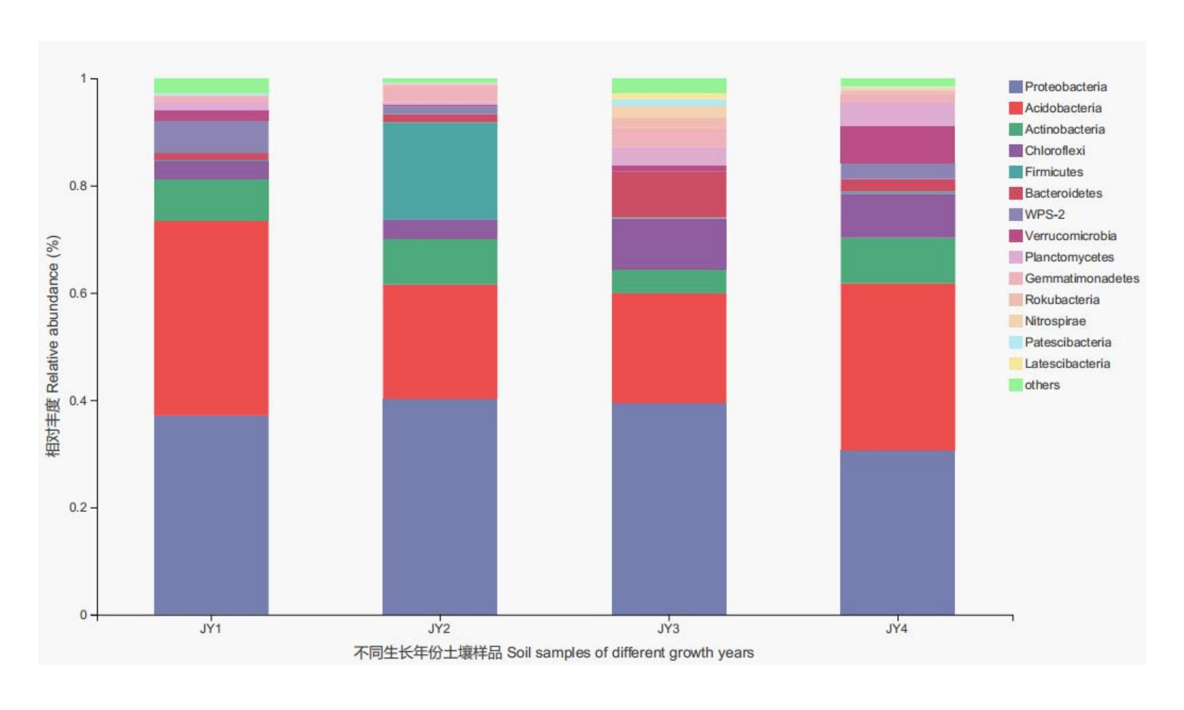
Note: Different lowercase letters in the same column indicate significant differences (P<0.05). The same below.

2.2 不同生长年限华重楼根际土壤微生物群落组成分析

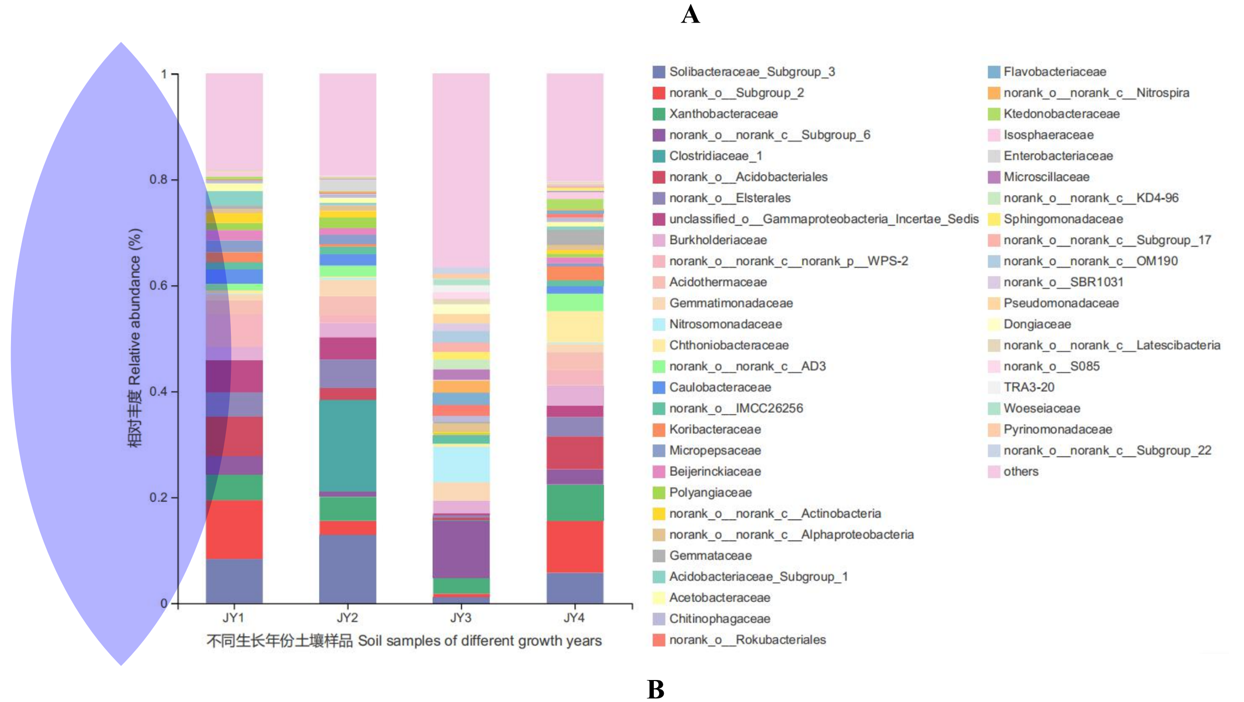
2.2.1 细菌群落组成分析

四个不同生长年份的华重楼根际土壤样品中共检测到细菌 25 门、56 纲、134 目、195 科、280 属、484 种。从门水平上看（图 1：A），随着华重楼的生长，土壤中不同细菌门类的相对丰度发生了明显变化。各生长年限华重楼根际土壤主要优势菌门均为变形菌门（Proteobacteria）、酸杆菌门（Acidobacteria）、放线菌门（Actinobacteria）和绿弯菌门（Chloroflexi）。其中，以变形菌门和酸杆菌门二者所占比例最高，约占细菌总丰度的 60%以上。变形菌门丰度随着生长年限的增加呈先升高后降低的趋势，在第 3 年至第 7 年间丰度增幅不大，而从第 7 年长至第 9 年时丰度出现了较大的下降，降幅为 22.36%。酸杆菌门细菌丰度变化则正好相反，随着华重楼生长年限的增加呈先降低后升高的趋势，从第 3 年生长至第 5-7 年时丰度显著下降，降幅分别为 41.35%-43.64%，而后在长至第 9 年时快速回升了 51.88%，表明华重楼对酸杆菌门的影响大于变形菌门。绿弯菌门和拟杆菌门（Bacteroidetes）丰度均随着华重楼生长年限的增加呈先升高后降低的趋势，从 3 年长至 5 年时两个菌门丰度均未发生大幅上升，但从第 5 年生长至第 7 年时丰度均显著上升，增幅分别为 164.90%和 456.21%；之后两者丰度回落，不同的是绿弯菌门下降幅度小，而拟杆菌门丰度下降幅度大、达 72.27%。放线菌门在第 7 年时丰度最低，其余生长年限中丰度差异不显著。另外，厚壁菌门（Firmicutes）在第 5 年时丰度达到 18.16%，而在其余年份中丰度均低于 5%；硝化螺旋菌门（Nitrospirae）在 7 年生的根际土壤中丰度比其他生长年限出现了显著增加。

在科水平(图 1：B)上，主要由 Solibacteraceae-subgroup-3、norank-o-Subgroup-2、黄色杆菌科（Xanthobacteraceae）、norank-o-norank-c-Subgroup-6 等菌科组成。其中，Solibacteraceae-subgroup-3 在生长 5 年的土壤中丰度最高，为 12.9%，生长 7 年的土壤中丰度最低，仅为 1.2%。norank-o-norank-c-Subgroup-6 则相反，在生长 5 年的土壤中丰度最低，为 1.1%，生长七年时丰度升至最高，为 10.9%。norank-o-Subgroup-2、Xanthobacteraceae、norank-o-Acidobacteriales 及 unclassified-o-Gammaproteobacteria-Incertae-sedies 等丰度随着生长年限的增加呈先下降后上升的趋势，第 7 年时丰度均为最低水平。此外，3 年、5 年和 9 年生土壤中均可检测出 norank-o-norank-c-norank-p-WPS-2、酸热菌科（Acidothermaceae）、norank-o-norank-c-AD3、柄杆菌科（Caulobacteraceae）、科里氏菌科（Koribacteraceae）等科的细菌，但上述科水平的细菌几乎不存在于 7 年生的土壤中。而产碱杆菌科（Nitrosomonadaceae）仅存在于 7 年生的土壤中，丰度为 6.7%。另外，Clostridiaceae-1 只存在生长 5 年的华重楼根际土壤中，丰度为 17.2%。



A



B

图中 Y1、JY2、JY3 和 JY4 分别对应 3 年生、5 年生、7 年生和 9 年生的土壤样品。下同。

JY1, JY2, JY3 and JY4: Correspond to soil samples of 3, 5, 7 and 9 years respectively. The same below.

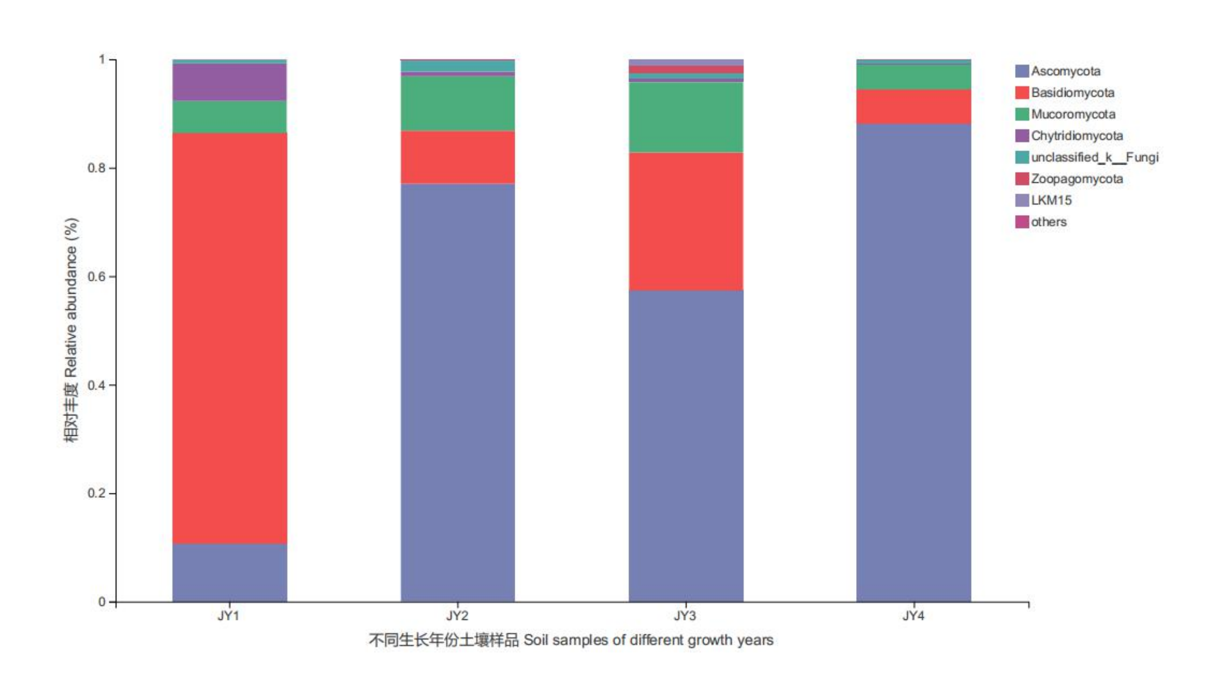
图 1 在门(**A**)，科(**B**)水平上根际土壤细菌的相对丰度

Fig. 1 The relative abundance of bacteria in the rhizosphere at phylum (**A**) and family (**B**) level

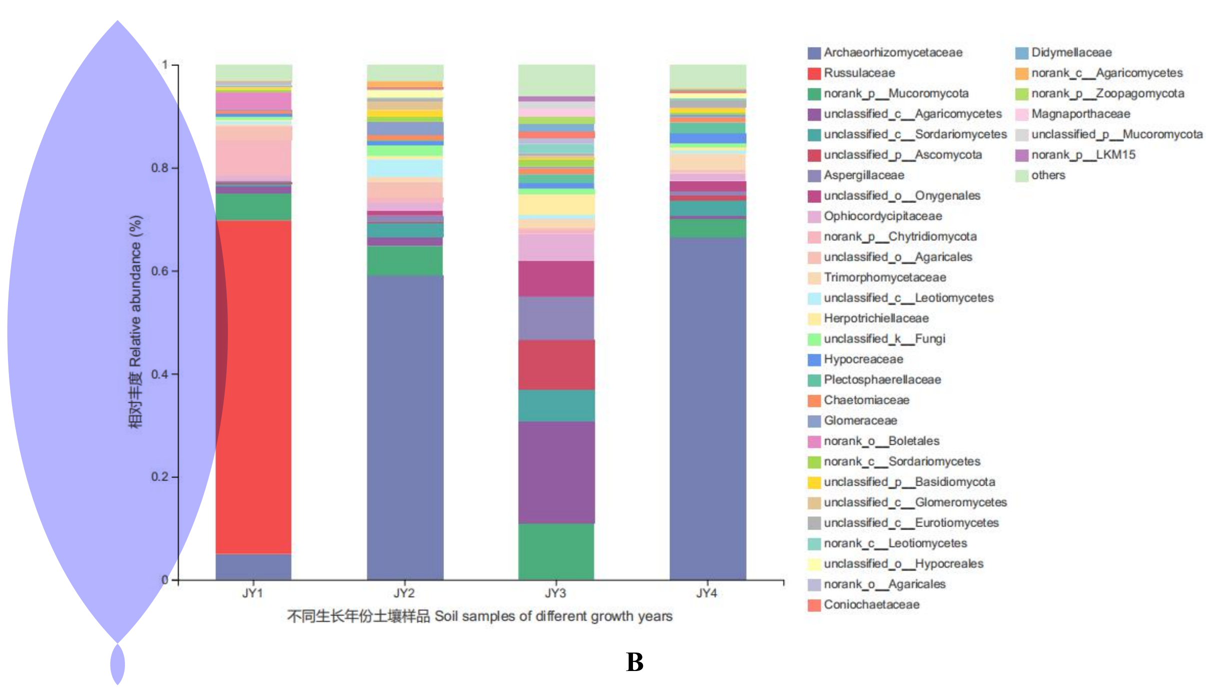
2.2.2 真菌群落组成分析

四个不同生长年份的华重楼根际土壤样品中共检测真菌 8 门、26 纲、56 目、76 科、78 属、96 种。从门水平上看(图 2：A)，土壤中的真菌主要由子囊菌门（Ascomycota）、担子菌门（Basidiomycota）与毛霉门（Mucoromycota）组成。其中，子囊菌门和担子菌门二者

所占比例达 80%以上，且各生长年限间丰度变化最大。子囊菌门丰度在土壤中大体呈逐年上升的趋势，生长 3 年的土壤中丰度比例最低，随后丰度快速上升，生长至第 9 年时丰度达到 88.11%。担子菌门丰度变化与子囊菌门相反，当子囊菌门丰度上升时，担子菌门丰度下降，担子菌门在生长 3 年的土壤中丰度最高。毛霉门真菌随着生长年份的增加呈先升高后降低的趋势，在华重楼生长 7 年的土壤中丰度最高。壶菌门丰度则随华重楼生长年限的增加呈逐年降低的趋势。在科水平上(图 2：B)，以古生菌科（Archaeorhizomycetaceae）、红菇科（Russulaceae）、norank-p-Mucoromycota 和 unclassified-c-Agaricomycetes 为优势菌科，各科在不同生长年限中丰度不同。古生菌科除了在 7 年生的华重楼根际土壤中检测不到外，在其余年份中丰度随着生长年限的增加呈逐年上升的趋势，生长至第 9 年时丰度最高，为 66.5%。红菇科仅存在于 3 年生的根际土壤中，丰度为 64.8%。norank-p-Mucoromycota、unclassified-c-Agaricomycetes、unclassified-c-Sordariomycetes、unclassified-p-Ascomycota、曲霉科（Aspergillaceae）、unclassified-o-Onygenales、线虫草科（Ophiocordycipitaceae）及蔓毛壳科（Herpotrichiellaceae）等的丰度均随着生长年限的增加呈先升高后降低的趋势，丰度最高均出现在华重楼生长 7 年的土壤中。另外，从图 2-B 中可以明显的看出 7 年生华重楼的根际土壤中真菌种类更丰富。



A



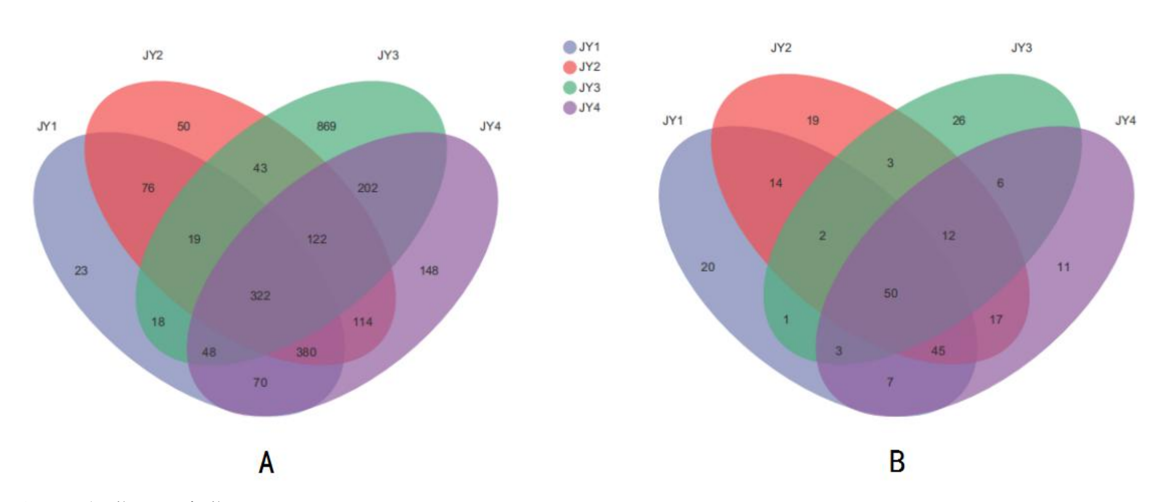
B

图 2 在门(A), 科(B)水平上根际土壤真菌的相对丰度

Fig. 2 Relative abundance of fungi in the rhizosphere at phylum (A) and family (B) level

2.3 不同生长年限华重楼根际土壤微生物群落的相关性分析

绘制 OTUs 韦恩图（图 3），从图 3-A 可以看出华重楼不同生长年限根际土壤共有的细菌 OTU 为 322 个，分别占各生长年限细菌 OTU 总数的 33.68%、28.59%、19.60%和 22.90%。各生长年限植株根际土壤独有的细菌 OTU 数量随着生长年份的增加呈先升高后降低的趋势；在生长 7 年的根际土壤中独有的细菌 OTU 类型最多，为 869 个，约为其他年份的 5.9-37.8 倍。图 3-B 显示根际土壤共有的真菌 OTU 数为 50 个，分别占各生长年份真菌 OTU 总数的 35.21%、30.86%、48.54%和 33.11%；同样在生长 7 年的根际土壤中，独有的真菌 OTU 类型最多，为 26 个。综合上述结果表明随着华重楼生长年限的增加，土壤细菌和真菌 OTU 类型均不同程度地发生变化，但细菌的变化幅度比真菌大，表明华重楼的生长对土壤细菌群落的影响大于真菌群落。



注: **A.** 细菌; **B.** 真菌。下同。

A. Bacteria; **B**. Fungi. The same below.

图 3 不同生长年限华重楼根际土壤细菌和真菌韦恩图

Fig. 3 Venn diagram of bacteria and fungi in the rhizosphere soil of *P. polyphylla* var. *chinensis* in different growth years

2.4 不同生长年限华重楼根际微生物群落结构差异性分析

对华重楼各生长年份的根际土壤样品的细菌和真菌群落组成的相似度进行 UPGMA 聚类分析，结果如图 4 所示。细菌群落组成聚类结果如图 4-A 所示，从图中可以看出，四份不同生长年限土壤大致分成三类：3 年生和 5 年生归为一类，7 年生和 9 年生的各为一类；表明 3 年生和 5 年生根际土壤中细菌群落组成相似度最高，7 年生的和其它年份的细菌群落组成相似度最低，9 年生的介于前两类之间。真菌群落组成聚类结果如图 4-B 所示，从图中可以看出，真菌群落也划分为 3 个大类：5 年生和 9 年生的归为一类，7 年生和 3 年生的各为一类；表明 5 年生和 9 年生中真菌群落组成相似度最高，3 年生的和其它年份的真菌群落组成相似度最低，7 年生的介于前两类之间。可见，随着华重楼生长年份的变化，其根际土壤细菌和真菌群落均发生了演变，但演变发生的时间和方式不同：细菌群落演变比较剧烈的时期是在定植后第 7 年，到第 9 年又和第 3、第 5 年趋于相同；而真菌群落变化比较剧烈的时期则在定植后第 5 年，第 7 年时出现一些变化，第 9 年时与第 5 年趋于相同。

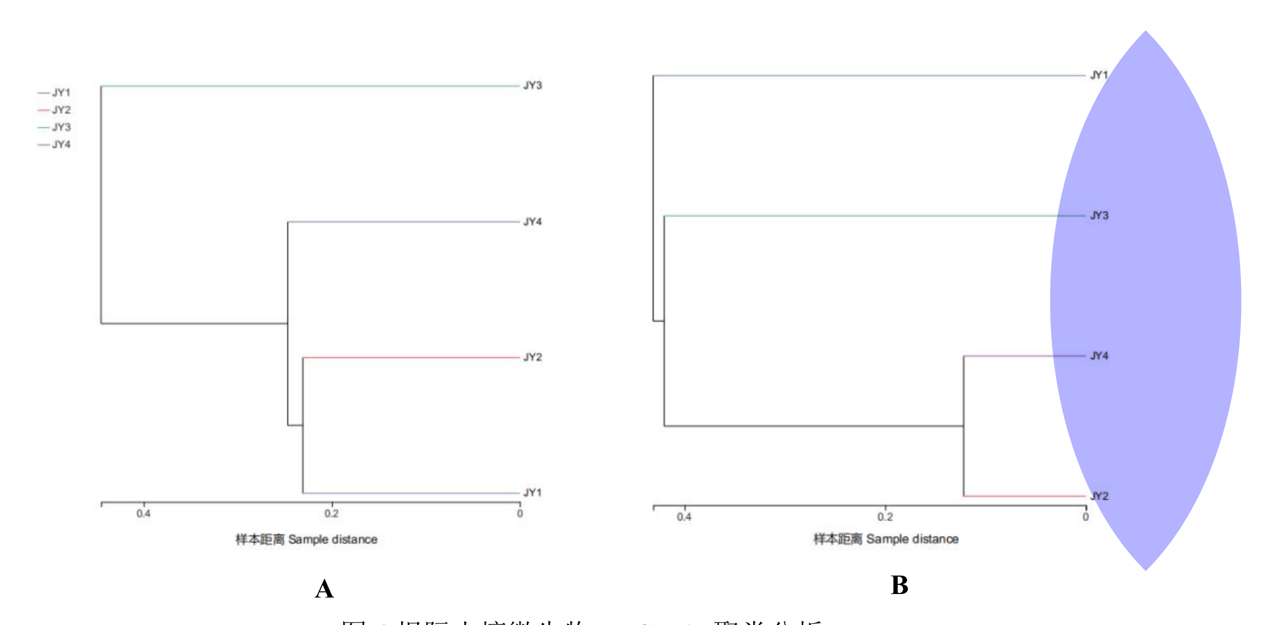


图 4 根际土壤微生物 UPGMA 聚类分析

Fig. 4 UPGMA cluster analysis of microorganisms in rhizosphere soil

2.5 不同微生物物种与土壤理化因子的相关性分析

2.5.1 华重楼根际土壤理化性质分析

检测 3 年生、5 年生、7 年生和 9 年生 4 个不同生长年份的华重楼根系土壤中的全氮（total nitrogen, TN）、全磷（total phosphorus, TP）、全钾（total potassium, TK）、有机碳（total organic carbon, TOC）、铵态氮（ammonium nitrogen, A）、硝态氮（nitrate nitrogen, N）、速效磷（available phosphorus, AP）、速效钾（available potassium, AK）和 pH 值（表 3），并根据 1980 年全国第 2 次土壤普查养分分级标准进行评价。结果表明，4 个不同生长年限华重楼的根系土壤理化性质存在差异。其中，全 N 均为丰富以上水平，第 5 年时出现峰值、为其它年份的 2.2-2.4 倍。全 P 为接近较丰富或丰富以上水平，第 3 年偏低（0.78 $g \cdot kg^{-1}$）、第 5 年时上升至峰值（1.62 $g \cdot kg^{-1}$）、第 7 年再下降（1.16 $g \cdot kg^{-1}$）、第 9 年又回升至接近峰值（1.57 $g \cdot kg^{-1}$）。全 K 虽随生长年份的增长而增高，但其含量则为较缺以下水平。速效 N（包含铵态 N 和硝态 N）第 3、5、7 年均大于 150 $mg \cdot kg^{-1}$，处于丰富水平，其峰值出现于第 5 年；第 9 年下

降幅度较大，处于较缺水平（<90 mg·kg^{-1}）。速效 P 不同年份的根际土壤间差别较大，其含量随着生长年份的延长而增加，均为丰富以上水平。速效 K 含量随着生长年份的增长先升后降，其峰值（407.92 mg·kg^{-1}）在第 7 年出现、为丰富水平；第 3 年表现为较缺、第 5 和第 9 年表现为中等含量水平。土壤有机质（有机碳）随着生长年份的增长而下降，除了第 9 年表现为中等外、其它年份均为丰富以上水平。土壤 pH 值随着生长年限的增加逐渐增加，从 4.10 升高到 6.96，土壤逐渐碱化，但处于适宜华重楼生长的范围。土壤营养元素和 pH 值随着华重楼生长年限发生的上述变化，可能与华重楼本身生长发育对土壤营养元素的消耗、其根系分泌活动对营养元素形态的改变、土壤中微生物活动以及其种群结构和组成发生变化等因素有关。

表 3 不同生长年限华重楼根际土壤的理化性质

Table3 Physical and chemical properties in the rhizosphere soil of *P. polyphylla* var. *Chinensis* in different growth years

生长年份 Years of growth	全氮 Total nitrogen (TN) (g·kg-1)	全磷 Total phosphorus (TP) (g·kg-1)	全钾 Total potassium (TK) (g·kg-1)	总有机碳 Total organic carbon (TOC) (g·kg-1)	铵态氮 Ammonium nitrogen (A) (mg·kg-1)	硝态氮 Nitrate nitrogen (N) (mg·kg-1)	速效磷 Available phosphorus (AP) (mg·kg-1)	速效钾 Available potassium (AK) (mg·kg-1)	pH
3 years	（2.69±0.10A）bc	（0.78±0.06C）c	（3.18±0.08F）d	（77.57±4.90A）a	（32.73±1.90）a	（152.77±11.01）b	（50.39±2.60A）c	（99.98±7.34D）b	（4.10±0.03）d
5 years	（6.30±0.13A）a	（1.62±0.07A）a	（7.75±0.13E）b	（71.59±5.53A）a	（24.71±1.24）b	（180.67±8.59）a	（45.66±3.60A）c	（129.95±6.84C）b	（4.52±0.02）c
7 years	（2.84±0.07A）b	（1.16±0.09A）b	（5.18±0.12E）c	（59.75±3.58A）b	（23.54±1.38）b	（144.27±11.57）b	（100.53±5.89A）b	（407.92±22.62A）a	（6.02±0.04）b
9 years	（2.60±0.07A）c	（1.57±0.09A）a	（13.16±0.17C）a	（25.63±2.75C）c	（22.00±1.20）b	（63.19±4.11）c	（158.95±11.61A）a	（125.97±8.17C）b	（6.96±0.07）a

注：同列中数值后面的不同字母 A，B，C，D，E，F 分别表示土壤养分评价水平丰富、较丰、中等、较缺、缺乏和极缺。

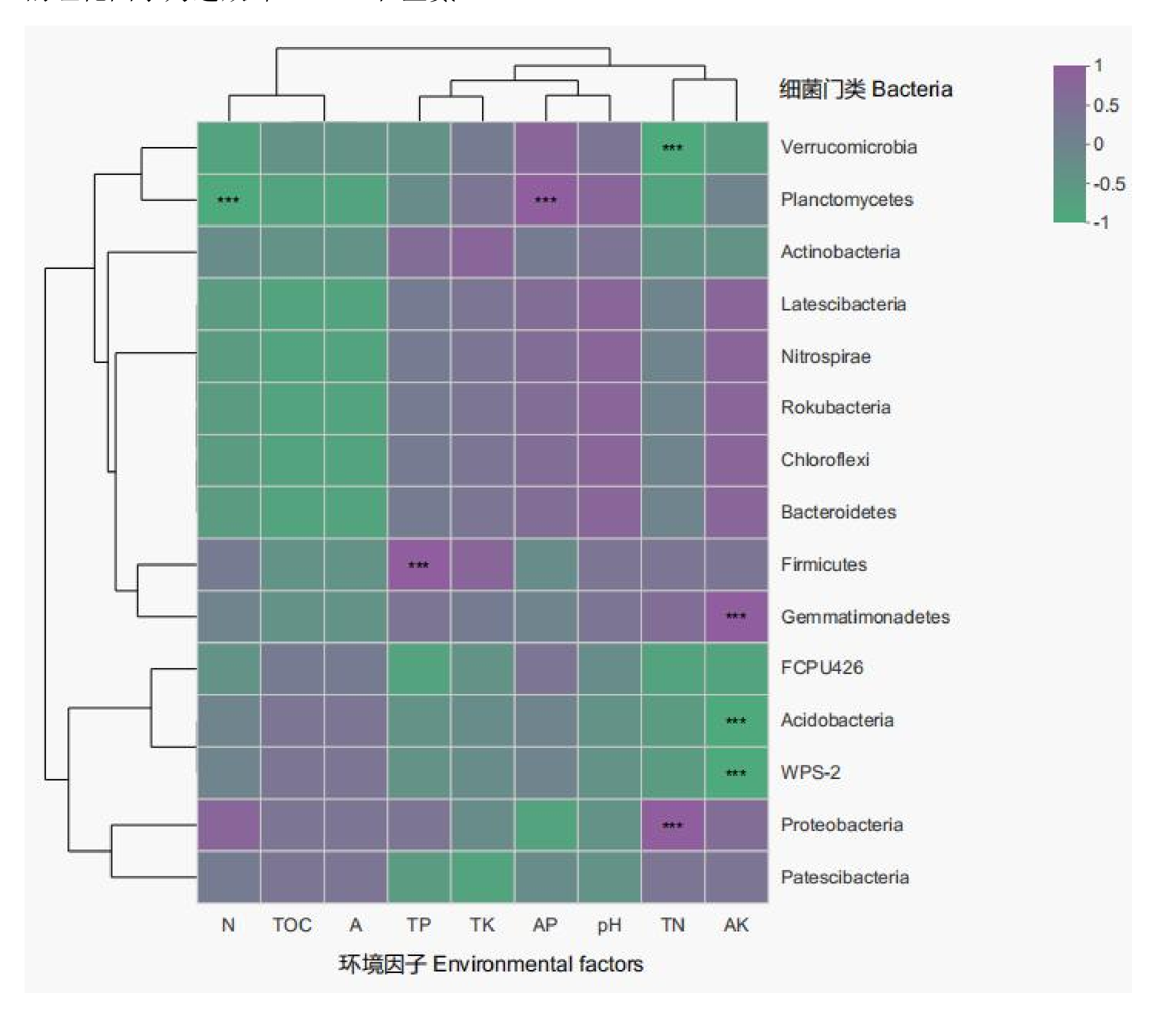
Note: Letters A, B, C, D, E and F in the same column respectively indicate the classification standards of soil nutrient content are rich, above average, medium, scarce, scarcer and scarcest.

2.5.2 不同微生物物种与土壤理化因子的相关性分析

土壤理化性质是影响华重楼产量和品质的重要因素之一，同样也是影响土壤微生物群落组成和数量的重要因子。将华重楼根际土壤中的细菌、真菌类群与土壤理化因子进行 Spearman 相关性分析，结果见图 5 和图 6。由图中可以看出，土壤理化因子与根际土壤不同微生物具有不同程度的相关性。

图 5 显示华重楼根际土壤中丰度排名前 15 的细菌门类与各土壤理化因子的 Spearman 相关性。由图可以看出，变形菌门、厚壁菌门和芽单胞菌门（Gemmatimonadetes）的丰度分别与全氮（TN）、全磷（TP）和速效钾（AK）呈显著正相关；而酸杆菌门、WPS-2 菌门和疣微菌门（Verrucomicrobia）分别与速效钾（AK）、速效钾（AK）和全氮（TN）呈显著负相关；浮霉菌门（Planctomycetes）与硝态氮（N）呈显著负相关、同时与 AP 呈显著正相关。其余 8 个门类丰度受土壤理化因子影响不显著。综上可知，在 15 类细菌中，速效钾（AK）对其中 3 类，全氮（TN）对其中 2 类，全磷（TP）、速效磷（AP）和硝态氮（N）各对其中 1 类产生了显著的正面或负面影响。此外，有机碳（TOC）和铵态氮（A）虽与 15 类细

菌相关性未达显著水平，但两者与细菌相关性几乎相同，均对绿弯菌门、拟杆菌门、浮霉菌门、己科河菌门（Rokubacteria）、硝化螺旋菌门和 Latescibacteria 有较强的负相关性。结合细菌组成分析中各门类占细菌丰度的比例，发现对华重楼根际土壤细菌群落组成起主要作用的理化因子为速效钾（AK）和全氮（TN）。



相关系数 *R* 取值范围在-1 和 1 之间，*R* 值在右边示例图中以不同颜色展示，R>0 表示正相关，*R*<0 表示负相关；图中***表示 $P \leqslant 0.05$。下同。

The correlation coefficient R is between -1 and 1. R value is shown in different colors in the example on the right. *R*>0 is positive and *R*<0 is negative correlation; *** means $P \leqslant 0.05$. The same below.

图 5 门水平下土壤细菌不同物种和环境因子的 Spearman 相关性热图

Fig. 5 Spearman correlation heatmap of different soil bacteria species and environmental factors at the phylum level

图 6 显示华重楼根际土壤中丰度排名前 8 的真菌门类与各土壤理化因子的 Spearman 相关性。由图可知，子囊菌门、一些未分类的真菌门类（unclassified_k_fungi）和捕虫霉门（Zoopagomycota）的丰度分别与全钾（TK）、全氮（TN）和速效钾（AK）呈显著正相关；担子菌门与全钾（TK）呈显著负相关；壶菌门（Chytridiomycota）则与 pH 值呈显著负相关、与土壤有机碳（TOC）和铵态氮（A）呈显著正相关。其余 3 个门类丰度受土壤理化因子影响不显著。综上可知，在 8 类真菌中，全钾（TK）对其中 2 类，pH 值、有机碳（TOC）、铵态氮（A）、全氮（TN）和速效钾（AK）各对其中一类产生了显著的正面或负面影响。此外，有机碳（TOC）及铵态氮（A）与 8 类真菌的相关性几乎一致，且与子囊菌门、担子菌门有较强的相关性。全磷（TP）虽与 8 类真菌的相关性未达显著水平，但与子囊菌门、

担子菌门也有较强的相关性。结合真菌组成分析中各门类占真菌丰度的比例，发现对华重楼根际土壤真菌群落组成起主要作用的土壤理化因子为全钾（TK），其次是 pH 值、有机碳（TOC）、铵态氮（A）、全磷（TP）、全氮（TN）和速效钾（AK）。

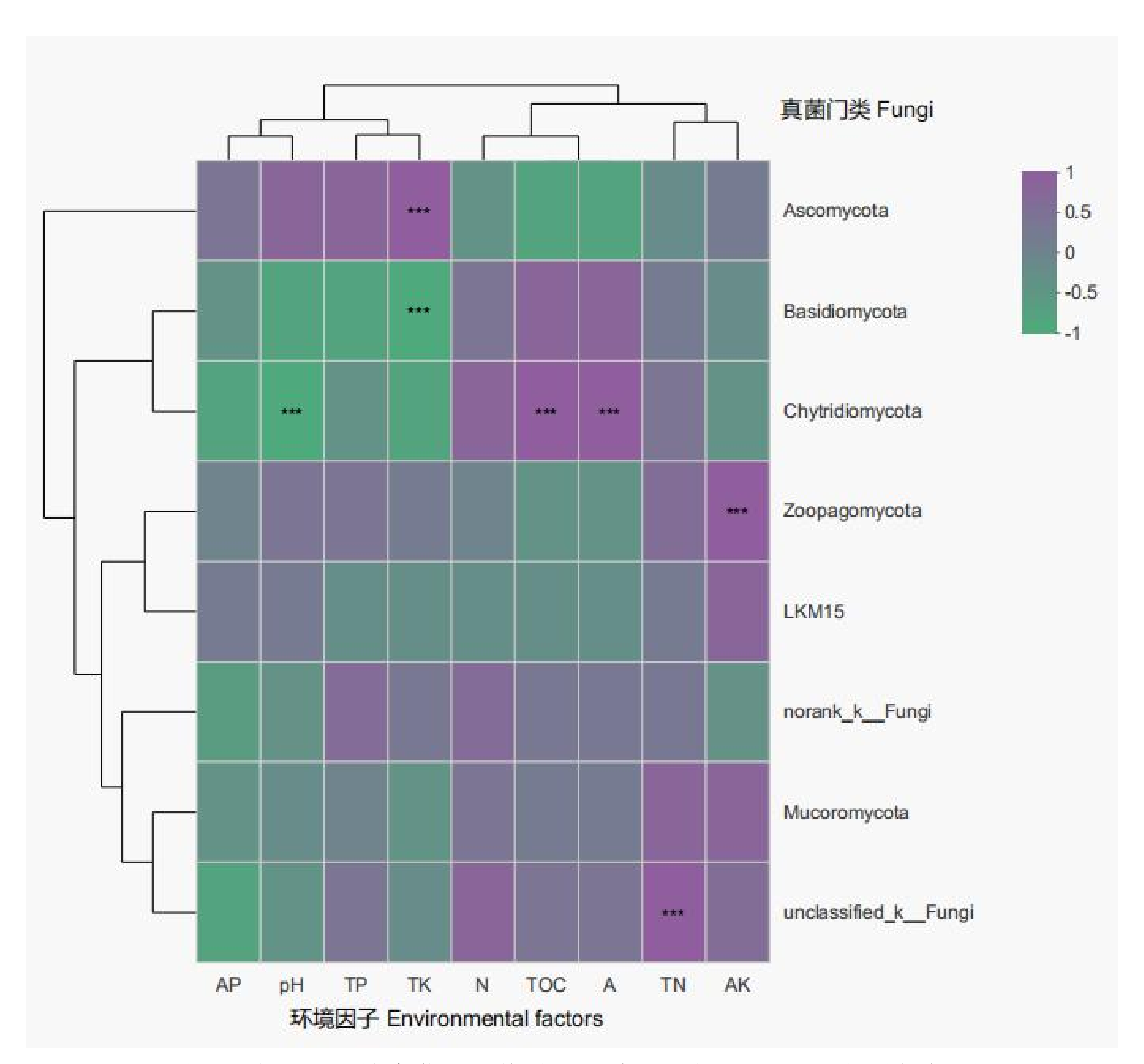


图 6 门水平下土壤真菌不同物种和环境因子的 Spearman 相关性热图

Fig. 6 Spearman correlation heatmap of different soil fungi species and environmental factors at the phylum level

3 讨论与结论

土壤微生物是土壤生态系统的重要组成部分，土壤微生物群落多样性可敏感地反映出植物的生长、繁殖以及代谢活动的变化；同时土壤生物之间存在相互制约、彼此依赖的关系，又与周围的环境因子相互作用、往复调控（Hirsch et al.，2010）。因此，研究植物根际土壤微生物多样性的变化有利于揭示植物的生长发育规律，对植物尤其是药用植物的栽培生产十分有意义。本文研究了不同生长年限野生华重楼根际土壤微生物多样性的变化规律，发现不同生长年限华重楼根际土壤中细菌及真菌群落的组成与结构存在差异，第 5-7 年是土壤微生物群落多样性和组成产生重大变化的关键时期。华重楼根际土壤中细菌丰度比例最大的两个门始终是变形菌门与酸杆菌门，两者丰度比例随着华重楼的生长发育发生较大变化，且趋势相反，在杉木人工林不同发育阶段土壤细菌类群特征的研究中也发现了相似的规律（魏志超等，2017）。郑梅霞等（郑梅霞等，2020）研究也表明华重楼根际土壤中含量最为丰富的

是变形菌门，其次是酸杆菌门和放线菌门。康林玉等（康林玉等，2018）在研究辣椒种植对根际土壤微生物多样性影响时发现辣椒种植前后土壤均以变形菌门和酸杆菌门为优势细菌，以子囊菌门、担子菌门和接合菌门为优势真菌。黄珍等（黄珍等，2010）在海南香蕉园中土壤样本中发现变形菌门、厚壁菌门和酸杆菌门是主要的细菌类群。上述研究表明不同植物根际环境的微生物优势菌群存在差异，华重楼根际土壤具有一般土壤微生物群落组成的共性。

不同生长年限华重楼根际土壤中细菌 Ace、Chao 和 Shannon 指数均显著高于真菌，而 Simpson 指数则显著低于真菌，这表明所选生长年限的华重楼根际土壤中细菌物种较真菌更加丰富，多样化程度更高，属于健康的“细菌型”土壤（康林玉等，2018）。华重楼生长到第 7 年时，根际土壤中的微生物丰富度及多样化程度均达到最高，超过 7 年后土壤中的微生物数量及多样性均出现了显著的下降，根际土壤有从“细菌型”向“真菌型”转变的趋势。周浓等（周浓等，2015）研究中也发现滇重楼根际土壤中细菌数量多于真菌数量，且随着生长年限的增加，真菌与解钾细菌数量呈逐年增加，而细菌、放线菌等数量呈逐年减小的变化趋势，表明华重楼与滇重楼根际微生物变化规律相似，这可能是由于两个不同变种七叶一枝花根系分泌物成份相似所致。根系分泌物的种类和数量直接影响着根际微生物的代谢和生长发育，进而对根际微生物的种类、数量和分布产生影响（Nihorimbere et al.，2011）。在麦冬、西洋参、浙贝母等（李琼芳，2006；李勇等，2010；孙世中等，2011；廖海兵等，2011）作物上的研究发现，当根际土壤从高肥力的“细菌型”向低肥力的“真菌性”转变时，病虫害增加，导致作物产量及质量下降等负面影响。因此，在华重楼人工栽培过程中，应当适时采收。同时还可以根据土壤微生物的状态，有针对性地利用微生物菌剂等措施调控土壤微生物环境，达到防治病虫害、增产提质等效果。

土壤微生物类群特征受气候、土壤性质等多方面的影响（赵维娜等，2016）。Liu 等（Liu et al.，2015）研究表明变形菌门喜欢在养分含量高的土壤环境中生存，且与土壤有机质和全氮含量显著相关，变形菌门在华重楼根际土壤中的丰度变化与变形菌门生长习性相对应，Spearman 相关性分析也表明变形菌门与全氮含量极显著正相关。速效钾(AK)与酸杆菌门极显著负相关，而王印等（王印等，2012）研究表明重楼根茎总皂苷含量与根际土壤全 K、速效 K 含量均达到显著正相关，表明酸杆菌门可能不利于重楼总皂苷的积累；土壤 pH 是影响土壤中酸杆菌丰度和多样性的重要因子，通常情况下土壤 pH 值与土壤中酸杆菌的相对丰度呈显著负相关关系（Griffiths et al.，2011），但本研究结果显示根际土壤中酸杆菌门的丰度与 pH 不呈显著负相关关系，而是与速效钾显著负相关，并随着华重楼生长年限的增加呈先降低后升高的趋势，表明在华重楼根际土壤中，速效钾与华重楼的生长对酸杆菌门丰度和多样性的影响强于 pH。全磷与速效磷分别与厚壁菌门、浮霉菌门呈极显著正相关，但与优势菌门相关性不显著，厚壁菌门与浮霉菌门在华重楼根际细菌中所占丰度比例较小，而变形菌门与酸杆菌门是华重楼根际土壤中丰度比例最大的细菌门类，这两个菌门的变化会引起整个根际微生物组成结构的较大改变，因此，对华重楼根际土壤细菌群落组成起主要作用的理化因子是速效钾和全氮，磷的影响不及速效钾和全氮。巨天珍等（巨天珍等，2008）对天水小陇山红豆杉林土壤真菌研究认为，影响土壤真菌数量和多样性的最主要因素是土壤 pH，其次是土壤中的有机质和水分含量；Paul 等（Paul et al.，2012）研究结果表明对土壤真菌群落变化有关的是总 C/N 的值，次要的因素是土壤 pH。本研究中全钾（TK）是影响华重楼根际土壤中真菌组成的主要因子，其次是 pH 值、有机碳（TOC）、全磷（TP）、全氮（TN）等，这与前人研究结果有差异但也有相同之处，表明不同植物土壤真菌因生境、植物种类等不同，主要的影响因子也存在差异。有机碳（TOC）及铵态氮（A）与华重楼根际土壤细菌和真菌主要门类的相关性表现几乎一致，表明两者对华重楼根际微生物群落组成的作用相似；此外，有机碳（TOC）、铵态氮（A）及全磷（TP）与真菌优势菌门的相关性比细菌强，表明三者对华重楼根际土壤真菌群落组成的影响比细菌大。华重楼根际土壤微生物独特的组

成结构可能与其根际分泌物有关，从而影响了土壤中微生物的分布（刘慧娟等，2019），根系分泌物质的种类及其与土壤、微生物互作的方式与机制尚不清楚，仍有待进一步研究。

本研究初步揭示了不同生长年限野生华重楼根际土壤微生物多样性的变化规律，发现第5-7年是土壤微生物群落多样性和组成产生重大变化的关键时期。研究结果为进一步探索华重楼生长发育与微生物的关系奠定了基础，也为今后进一步研究华重楼有效成分积累与根际微生物环境的关系、探讨华重楼病虫害的发生机制及防治措施提供了科学依据，有助于促进华重楼的可持续利用及产业的发展。

参考文献

BAO SD, 2000. Soil agrochemical analysis[M]. Beijing: China Agriculture Press: 14. [鲍士旦，2000. 土壤农化分析[M]. 北京：中国农业出版社：14.]

BUTLER JL, WILLIAMS MA, BOTTOMLEY PJ, et al., 2003. Microbial community dynamics associated with rhizosphere carbon flow[J]. Appl Environ Microbiol, 69: 6793-6800.

GARBEVA P, ELSAS JDV, VEEN JAV, 2008. Rhizosphere microbial community and its response to plant species and soil history[J]. Plant Soil, 302(1): 19-32.

GRIFFITHS RI, THOMSON BC, JAMES P, et al., 2011. The bacterial biogeography of British soils[J]. Environ Microbiol, 13(6): 1642-1654.

HAN YZ, ZEGN B, ZHAO JJ, et al., 2010. Studies on Elephant Grass rhizosphere microbes[J]. Chin J Soil Sci, (6): 1349-1354. [韩玉竹，曾兵，赵建军，等，2010. 象草根际微生物研究[J]. 土壤通报，(6)：1349-1354.]

HE JH, FU XB, MA DM, et al., 2008. Changes of phenolic acid content and rhizosphere microbial population in soil during tuberous root expansion of *Rehmannia glutinosa* Libosch[J]. Henan Sci, (11): 1369-1372[何江华，付香斌，马东明，等，2008. 地黄块根膨大过程中土壤化感物质含量及微生物数量变化研究[J]. 河南科学，(11)：1369-1372.]

HIRSCH PR, MAUCHLINE TH, CLARK IM, 2010. Culture-independent molecular techniques for soil microbial ecology [J]. Soil Biol Biochem, 42(6): 878−887.

HUANG Z, TAN ZQ, RUAN YZ, 2010. Phylogenetic diversity of bacteria in banana soils determined with 16S rDNA library analysis[J]. Chin J Trop Crop, 31(6): 989-993. [黄珍，谭志琼，阮云泽，2010. 香蕉园土壤 16S rDNA 文库分析[J]. 热带作物学报，31(6)：989-993.]

JU TZ, CHEN Y, CHANG CH, et al., 2008. The diversity of soil fungi and its relations with fertility factors in *Taxus chinensis* (Pilg.) rehd community of Xiaolongshan of Tianshui City[J]. Res Environ Sci, 21(1): 128-132. [巨天珍，陈源，常成虎，等，2008. 天水小陇山红豆杉林土壤真菌多样性及其与生态因子的相关性[J]. 环境科学研究，21(1)：128-132.]

KANG LY, LIU ZB, OU LJ, et al., 2018. Effects of *Pepper* cultivation on the microbial diversity of rhizosphere soil[J]. J Hunan Agric Univ(Nat Sci Ed), 44(2): 151-156. [康林玉，刘周斌，欧立军，等，2018. 辣椒种植对根际土壤微生物多样性的影响[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版)，44(2)：151-156.]

LI H, DONG T, WANG MY, 2016. Effects of biochar on microbial communities and metabolic activity in rhizosphetic soil of banana seedlings[J]. J Microbiol, 36(1): 42-48. [李航，董涛，王明元，2016.生物炭对香蕉苗根际土壤微生物群落与代谢活性的影响[J]. 微生物学杂志，36(1)：42-48.]

LIU HJ, WU QG, QI BJ, et al., 2019. Research status and prospect on rhizosphere microbiome of medicinal plants[J]. J Yichun Univ, 41(6)：96-101. [刘慧娟，吴其国，祁冰洁，等，2019. 药

用植物根际微生物研究现状及前景[J]. 宜春学院学报，41(6)：96-101.]
LI QF, 2006. Dynamics of the microbial flora in the *Liriope* rhizosphere and outrhizosphere during continuous cropping years[J]. Chin J Soil Sci, 37(3):563-565. [李琼芳，2006. 不同连作年限麦冬根际微生物区系动态研究[J]. 土壤通报，37(3)：563-565.]
LI Y, YING YX, ZHAO DY, et al., 2010. Genetic diversity analysis on rhizosphere soil microbial population of *Panax ginseng* and *Panax quinquefolium* by RAPD[J]. Chin Tradi Herb Drug, 41(11):1871-1875. [李勇，应益昕，赵东岳，等，2010. 人参及西洋参栽培土壤微生物种群遗传多样性的 RAPD 分析[J]. 中草药，41(11)：1871-1875.]
LIAO HB, LI YX, SHAO JJ, et al., 2011. Impacts of continuous cropping on *Fritillaria thunbergii Miq.* growth and rhizosphere soilproperties[J]. Chin J Ecol, 30(10): 2203-2208. [廖海兵，李云霞，邵晶晶，等, 2011. 连作对浙贝母生长及土壤性质的影响[J]. 生态学杂志，30(10)：2203-2208.]
LIU JG, BIAN XM, ZHANG W, et al., 2008. Effects of long-time continuous cropping of cotton and returning cotton stalk into on soil biological activities[J]. Chin J Appl Ecol, 19(5): 1027-1032. [刘建国，卞新民，张伟，等，2008. 长期连作和秸秆还田对棉田土壤生物活性的影响[J]. 应用生态学报，19(5)：1027-1032.]
LIU JJ, Su YY, Yu ZH, et al. 2015. Soil carbon content drives the biogeographical distribution of fungal communities in the black soil zone of north-east China[J]. Soil Biol and Biochem, 83: 29-39.
NIHORIMBERE V, ONGENA M, SMARGIASSI M, et al., 2011. Beneficial effect of the rhizosphere microbial community for plant growth and health[J]. Biotechnol Agron Soc Environ, 15(2): 327-337.
PAUL GD, STEVEN PR, KEVIN KN, et al., 2012. Soil fungal community composition does not alter along a latitudinal gradient through the maritime and sub-Antarctic[J]. Fungal Ecol, 5: 403-408.
QIAO QM, CHENG MG, WANG XM, et al., 2009. Study on the change of microbial quantity, enzyme activity and phenolic acids in *Rehmannia glutinosa* rhizosphere soil[J]. Chin Agric Sci Bull, 25(24): 151-154. [乔卿梅，程茂高，王新民，等，2009. 怀山药根际土壤微生物、酶活性和酚酸物质变化及其关系研究[J]. 中国农学通报，25(24)：151-154.]
QUAN X, YANG YY, LIANG J, et al., 2016. Soil microflora change during integrated protection cultivation of wheat-maize rotation[J]. Chin Agric Sci Bull, 32(12): 132-138. [全鑫，杨艳艳，梁娟，等，2016. 小麦-玉米轮作一体化保护栽培期间土壤微生物群落变化[J]. 中国农学通报，32(12)：132-138.]
SU HL, ZHENG MX, FANG SZ, et al., 2020. Research on the propagation techniques of the seed-collecting mother plant of *Paris polyphylla* var. *chinensis*[J]. Fujian Agric Sci Technol, 358(6): 66-69. [苏海兰，郑梅霞，方少忠，等，2020. 七叶一枝花采种母株繁殖技术研究[J]. 福建农业科技，358(6)：66-69.]
SUN SZ, GUAN HL, ZHANG YF, et al., 2011. Dynamic analysis of *Carnation* rhizosphere microbial taxa under three states in facility cultivation[J]. Soils, 43(1):72-75. [孙世中，官会林，张云峰，等，2011. 设施栽培下香石竹不同植株状态根际土壤微生物类群变化分析[J]. 土壤，43(1)：72-75.]
TANG HF, ZHAO YP, JIANG YP, 1998. Process of *Paris*[J]. Chin Trad Herb Drugs, 29(12): 839-842. [汤海峰，赵越平，蒋永培，1998. 重楼属植物的研究概况[J]. 中草药，29(12)：839-842.]

WANG J, LIU YM, WANG CM, et al., 2015. Dynamic changes of rhizosphere soil microbial biomass and nutrition of different cherry rootstocks[J]. Acta Agric Boreal Sin, 24(1):123-129. [王静，刘艳梅，王春梅，等，2015. 不同樱桃砧木根际微生物和养分的动态变化[J]. 西北农业学报，24(1)：123-129.]

WANG LN, HU P, YANG GY, et al., 2018. Dynamic accumulation comparison of nine saponins in the rhizomes of six *Paris* plants with different growth period[J]. China Pharm, 21(12): 37-41. [王林娜，胡培，杨光义，等，2018. 不同生长年限的 6 种重楼属植物根茎中 9 种皂苷含量动态累积比较[J]. 中国药师，21(12)：37-41.]

WANG Y, HE ZJ, DUAN YT, et al., 2012. Study on relationship between content of effective components in rhizome of *Paris polyphylla* var. *yunnanensis* and potash status in rhizosphere soil[J]. Southwest Chin J Agric Sci, 25(3)：950-953. [王印，何忠俊，段艳涛，等，2012. 滇重楼根茎有效成分与土壤钾状况的关系研究[J]. 西南农业学报，25(3)：950-953.]

WEI ZC, HUANG J, LIU YH, et al., 2017. Community characteristics of soil bacteria of *Cunninghamia lanceolata* plantations at different developmental stages[J]. J SW For, 37(5):122-129. [魏志超，黄娟，刘雨晖，等，2017. 不同发育阶段杉木人工林土壤细菌类群特征[J]. 西南林业大学学报，37(5)：122-129.]

WEI ZH, CHENG MG, JIE XL, et al., 2010. Variation of microbial community and enzyme activity in rhizospheric soil of *Forsythia suspense* (Thunb.) [J]. N Hortic, (6): 12-14. [魏志华，程茂高，介晓磊，等，2010. 连翘根际微生物区系和土壤酶活性变化的研究[J]. 北方园艺，(6)：12-14.]

YANG ZY, YANG LF, LIU CK, et al., 2019. Transcriptome analyses of *Paris polyphylla* var. *chinensis*, *Ypsilandra thibetica*, and *Polygonatum kingianum* haracterize their steroidal saponin biosynthesis pathway [J]. Fitoterapia, 135: 52-63.

YUAN LC, CHEN C, YANG LY, et al., 2004. Preliminary study on propagation induction of rhizome of *Paris polyphylla* var. *yunnanensis*[J]. J Chin Med Mater, 27(7): 477. [袁理春，陈翠，杨丽云，等，2004. 滇重楼根状茎繁殖诱导初报[J]. 中药材，27(7)：477.]

ZHANG J, XIAO GS, ZHOU N, et al., 2016. Variation of rhizospheric microorganisms and soil enzyme activity of *paridis* rhizoma cultivated in three gorges reservoir region[J]. Chin J Inf TCM, 23(10): 95-99. [张静，肖国生，周浓，等，2016. 三峡库区栽培重楼属药用植物根际土壤微生物数量和酶活性的变化[J]. 中国中医药信息杂志，23(10)：95-99.]

ZHANG Y, LV SS, ZHOU N, et al., 2011. Comparison of 4 kind of chonglou saponins contents in Paris polyphylla of different growing years[J]. Chin Pharm, 22(43): 4081-4083. [张烨，吕霜霜，周浓，等，2011. 不同生长年限滇重楼中 4 种重楼皂苷的含量比较[J]. 中国药房，22(43)：4081-4083.]

ZHAO WN, WANG YX, CHEN QX, et al., 2016. Effect of soil physical-chemical properties and microorganism quantity on enzyme activityby in natural evergreen broad-leaved forest by path analysis[J]. J Ne For, 44(1):75-80. [赵维娜，王艳霞，陈奇伯，等，2016. 天然常绿阔叶林土壤酶活性受土壤理化性质、微生物数量影响的通径分析[J]. 东北林业大学学报，44(1)：75-80.]

ZHENG MX, CHEN H, ZHU YJ, et al., 2020. Microbial diversity in rhizosphere and non-rhizosphere soils of *Paris polyphylla* var. *chinensis* plants[J]. Fujian J Agr Sci, 35(12): 1357-1367. [郑梅霞，陈宏，朱育菁，等，2020. 七叶一枝花根际与非根际土壤细菌群落多样性[J]. 福建农业学报，35(12)：1357-1367.]

ZHOU N, QI WH, XIAO GS, et al., 2015. Correlation between distribution of rhizospheric

microorganisms and contents of steroidal saponins of *Paris polyphylla* var. *yunnanensis*[J], Chin J Chin Mate Med, 40(6): 1055-1060. [周浓，戚文华，肖国生，等，2015. 滇重楼根际微生物分布与甾体皂苷含量的相关性[J]. 中国中药杂志，40(6)：1055-1060.]